FICHE TECHNIQUE

GELOSE VRBG

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES ENTEROBACTERIES

BK011HA
BK011GC
BM07508

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits laitiers, les viandes, les charcuteries et les autres produits alimentaires. Ce milieu peut être utilisé dans le cadre de la Pharmacopée pour la recherche des bactéries Gram négatives résistantes aux sels biliaires lors du contrôle microbiologique des produits non stériles.

2 PRINCIPES

La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

La dégradation du glucose en acide est révélée par le virage au rouge de l'indicateur de pH, le rouge neutre.

3 PREPARATION

Préparation de milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 39,5 g de milieu déshydraté (BK011) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas surchauffer.
- Ne pas autoclaver.

✓ **Reconstitution : 39,5 g/L**

✓ **Ne pas autoclaver**

Préparation de milieu prêt à liquéfier :

- Faire fondre le milieu ainsi préparé ou prêt-à-liquéfier (BM075) pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Pour un ensemencement en surface, couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

Note : Le milieu peut être additionné de MUG (4-méthyl-umbelliféryl-ß-D-glucuronide) afin de détecter *Escherichia coli* (se référer à la fiche technique concernant le supplément MUG 50 mg BS024).

4 MODE D'EMPLOI

Microbiologie des aliments

- Transférer 1 mL de la suspension et, si nécessaire, de ses dilutions décimales successives dans une boîte de Petri stérile.
- Couler environ 15 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler à nouveau environ 5 mL de milieu, de façon à former une deuxième couche.
- Laisser solidifier.
- Incuber à 37 °C pendant 24 heures ± 2 heures.

✓ **Ensemencement : En double couche**

✓ **Incubation : 24 ± 2 h à 37 °C**

Note : Alternativement, la température de 30 °C peut être choisie lorsque le dénombrement des entérobactéries est entrepris dans le cadre d'un procédé technologique et comprend les entérobactéries mésophiles.

Chapitres harmonisés des pharmacopées

- A partir du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 32,5 ± 2,5 °C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
18 à 24 h à 32,5 ± 2,5 °C

5 LECTURE

Les entérobactéries présentent des colonies violettes, entourées ou non d'un halo violet de sels biliaires précipités.

6 FORMULE-TYPE

Cette formule-type peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Digestat enzymatique de tissus animaux ..... 7,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- Glucose ..... 10,0 g
- Sels biliaires ..... 1,5 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Rouge neutre ..... 30,0 mg
- Cristal violet ..... 2,0 mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige à légèrement rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rougeâtre.

Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 30°C et à 37°C (NF V 08-054 ; XP CEN ISO/TS 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
Salmonella Typhimurium	WDCM 00031	$P_R \geq 50\%$	Colonies rouge-violacé, entourées d'un halo violet
Escherichia coli	WDCM 00013	$P_R \geq 50\%$	Colonies rose-violacé
Pseudomonas aeruginosa	WDCM 00025	Faible	Colonies incolores à beiges
Enterococcus faecalis	WDCM 00087	Inhibée	-
Staphylococcus aureus	WDCM 00034	Inhibée	-

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu en flacons : 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

9 PRESENTATION

Milieu prêt-à-liquéfier
10 flacons de 200 mL BM07508

Milieu déshydraté
Flacon de 500 g BK011HA
Seau de 5 kg BK011GC

10 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mossel, D.A.A., Mengerink, W.H.J., and Scholts, H.H. 1962. Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*. J. Bact., 84: 381.

Mossel, D.A.A., Wisser, M., and Cornelissen, A.M.R. 1963. The examination of foods for *Enterobacteriaceae* using a test of the type generally adopted for the detection of *Salmonellae*. J. Appl. Bact., 24: 444-452.

NF ISO 21528-1 (V 08-039-1). Décembre 2004. Microbiologie des aliments. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*. Partie 1 : Recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec préenrichissement.

NF ISO 21528-2 (V 08-039-2). Décembre 2004. Microbiologie des aliments. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*. Partie 2 : Méthode par comptage des colonies.

NF V08-054. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des entérobactéries présumées par comptage des colonies obtenues à 30°C ou à 37°C.

Pharmacopée européenne. 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles (recherche de microorganismes spécifiés). Solution et milieux de culture recommandés.

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK011/FR/2000-11 : 10.
Date création : 11-2000
Date de révision : 10-2013
Motif de révision : Révision générale (§ 4 : Mode d'emploi ; § 7 : Souches de contrôle ; § 10 : Références bibliographiques)